УДК 536.7:615.3

ОЦЕНКА ЭНЕРГИИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ НЕКОТОРЫХ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ГРУПП ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ С БЕЛКОВЫМИ МОЛЕКУЛАМИ В ВОДНОЙ СРЕДЕ

А.А. Бондарев, И.В. Смирнов

ГОУ ВПО Алтайский государственный медицинский университет, г. Барнаул
E-mail: gc_ivan@mail.ru

С использованием неэмпирического квантово-химического метода DFT (теория функционала плотности) изучены основные энергетические эффекты при образовании комплексов органических веществ с белковыми молекулами, которые определяют термодинамику этого процесса. Комплексообразование рассматривается как замещение воды в сольватированных молекулах белка и органического соединения. Показана определяющая роль вкладов сильных водородных связей и гидрофобного эффекта в прочности образованных комплексов.

Оценка фармакологической и биологической активности веществ имеет огромное практическое значение. Целью нашей работы было количественное описание энергетических эффектов образования комплексов лекарственных веществ с молекулами белка в условиях взаимодействия в водной среде.

Термодинамическое описание позволяет рассматривать образование таких комплексов как динамическое равновесие различных энергетических состояний. Расчет энергий этих состояний возможен с применением современных методов квантовой химии.

Материалы и методы

Неэмпирические квантово-химические расчеты DFT (теория функционала плотности) выполнялись с помощью стандартного пакета программ GAMESS методом B3LYP/6-311G* с обменным функционалом Беке B3 и корреляционным функционалом Ли, Янга и Пара (LYP) [1]. Геометрии рассчитанных молекул были полностью оптимизированы, отсутствие мнимых частот колебаний подтверждало их стационарный характер.

Результаты и обсуждение

Константу прочности комплекса лекарственного вещества с молекулами белка в водной среде можно оценить по термодинамическому уравнению:

$$K_p = e^{\frac{-\Delta G}{RT}} = e^{\frac{-\Delta H}{RT}} \cdot e^{\frac{\Delta S}{R}}. \quad (1)$$

Энтропийная составляющая имеет величину $T{\cdot}\Delta S$<4 кДж/моль [2].

Процесс образования комплекса мы рассматриваем как динамическое равновесие двух энергетических состояний в условиях организма (*in vivo*) при 310 К (37 °С). Исходное состояние – гидратированные молекулы лекарственного вещества (ЛВ) и белка. Второе состояние – образовавшийся комплекс молекулы ЛВ с белком и взаимодействие высвободившихся молекул воды между собой.

Энтальпийную составляющую ур. (1) можно рассчитать по формуле:

$$\Delta H = (\Delta H_{ЛВ-БС} + \Delta H_{В-В}) - (\Delta H_{ЛВ-В} + \Delta H_{БС-В}), \quad (2)$$

где: $\Delta H_{ЛВ-БС}$ – энергия взаимодействия активной группы лекарственного вещества с группами молекулы белка; $\Delta H_{В-В}$ – энергия взаимодействия молекул воды между собой; $\Delta H_{ЛВ-В}$ – энергия гидратации активной группы лекарственного вещества; $\Delta H_{БС-В}$ – энергия гидратации активной группы белка.

Межмолекулярное взаимодействие описывается многими составляющими. Слабые Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия имеют энергию менее 0,4 кДж/моль, а с учетом того, что в исходном состоянии молекулы сольватированы, т.е. уже взаимодействуют с другими молекулами, разница этих энергий имеет на порядок меньше значения и близка к нулю.

Особое место в межмолекулярных взаимодействиях занимает водородная связь, которая может иметь энергию от 1 до 200 кДж/моль, сравнимую с энергиями ковалентных химических связей. Различают слабую водородную связь с энергией до 20 кДж/моль, среднюю – 20...60 кДж/моль, образующуюся при взаимодействии нейтральных молекул, и сильную водородную связь от 60 до 200 кДж/моль, которая наблюдается при взаимодействии молекул с заряженными ионами [3].

Был проведен расчет 40 различных органических и неорганических молекул, включая 20 аминокислот, встречающихся в организме. Также нами был проведен расчет димеров и тримеров аминокислот, который показал, что при полимеризации эффективные заряды на активных центрах аминокислотных остатков практически не изменяются при наращивании цепи. Это позволяет моделировать взаимодействие с белком, заменяя его взаимодействием с аминокислотными остатками. Для всех рассмотренных молекул была рассчитана энергия взаимодействия сильно заряженных центров с молекулами воды.

Затем были рассчитаны энергии замещения для процесса комплексообразования по ур. (2). В ходе этих процессов число водородных связей не изменялось.

Энергетические эффекты межмолекулярного взаимодействия в корне изменяются при учете того, что взаимодействие происходит в водной среде. Это иллюстрируют следующие примеры:

Таблица 1. *Энергетический эффект взаимодействия карбонильной группы с гидроксильной группой с образованием водородной связи в водной среде*

Взаимодействие	Энергия, кДж/моль
$CH_3-COOH ... HOCH_2-CH_3$	–59,85
$H_2O ... H_2O$	–43,47
$CH_3-COOH ... H_2O$	–63,26
$CH_3-CH_2OH ... H_2O$	–43,27
Энергетический эффект замещения воды $CH_3COOH ... H_2O + CH_3CH_2OH ... H_2O =$ $= CH_3COOH ... HOCH_2CH_3 + H_2O ... H_2O$	+3,21

В данном случае происходит взаимодействие карбонильной группы с гидроксильной, если взаимодействие в вакууме, то энергетический эффект составил бы –59,85 кДж/моль, в водной же среде эти группы уже связаны с молекулами воды с энергией –63,26 и –43,27 кДж/моль. В результате энергетический выигрыш имеет величину +3,21 кДж, т.е. с учетом энтропийной составляющей, близок к нулю. Т.е. введение слабых групп в принципе не способно повысить аффинитет ЛВ.

Таблица 2. *Энергетические эффекты взаимодействия метильных радикалов между собой и с молекулами воды*

Взаимодействие	Энергия, кДж/моль
$CH_4 ... CH_4$	≈–0,1
$H_2O ... H_2O$	–43,27
$CH_4 ... H_2O$	≈–0,1

Второй пример иллюстрирует гидрофобный эффект. В данном случае выигрыш обусловлен высокой энергией взаимодействия молекул между собой, что и делает этот процесс замещения энергетически выгодным. Гидрофобный эффект пропорционален площади гидрофобного сегмента и составляет величину –10 кДж/моль·нм^2, для метильной группы около –2 кДж/моль, бензольное кольцо дает эффект –11 кДж/моль. В вакууме такое взаимодействие имело бы энергию порядка –0,1 кДж/моль [4].

Таблица 3. *Энергетический эффект взаимодействия карбоксильной группы с карбоксильным ионом с образованием водородной связи в водной среде*

Взаимодействие	Энергия, кДж/моль
$CH_3-COOH ... {}^{-}OOC-CH_3$	–139,24
$H_2O ... H_2O$	–43,27
$CH_3-COOH ... H_2O$	–63,26
$CH_3-COO^- ... H_2O$	–84,37
Энергетический эффект замещения воды $CH_3COOH ... H_2O + CH_3COO^- ... H_2O =$ $= CH_3COOH ... {}^{-}OOCCH_3 + H_2O ... H_2O$	–34,88

Третий пример иллюстрирует энергетический выигрыш при образовании сильных водородных связей. Хотя эти группы имеют большую энергию взаимодействия с молекулами воды, тем не менее,

энергетический выигрыш процесса замещения составил –34,88 кДж/моль.

Процесс образования прочного комплекса можно рассматривать не только как замещение молекулами ЛВ воды на аминокислотах, но и как замещение аминокислотными остатками воды в комплексе ЛВ-вода. Чтобы активный центр молекулы ЛВ заместил молекулу воды, связанную с молекулой белка, необходимо, чтобы он был способен образовывать более сильную водородную связь, чем молекула воды. И наоборот, чтобы активный центр аминокислотного остатка заместил молекулу воды, связанную с веществом, он должен образовывать более сильную водородную связь. Необходимо, чтобы группы в молекулах лекарственного соединения и аминокислотах были одновременно сильнее воды, тогда такое замещение может усиливать активность препаратов. Однако не во всех системах, соответствующих этому правилу, наблюдается энергетический выигрыш, то есть это необходимое но не обязательное условие. Все остальные активные центры как молекул действующего вещества так и молекул белка, образующие менее сильные водородные связи, в принципе не способны дать энергетического выигрыша при образовании комплекса в водной среде, то есть увеличить его прочность.

Этот факт позволяет исключить множество вариантов взаимодействия, не дающих увеличения прочности комплекса в водной среде. В молекуле ЛВ следует рассматривать только несколько центров, которые дают энергетический выигрыш. Среди 20 аминокислот, встречающихся в организме, способны образовывать более сильные, чем молекулы воды, водородные связи только аргинин (Arg), лизин (Lys), аспарагиновая (Asp) и глутаминовая (Glu) кислоты. При наличии сопряженных и ароматических систем в исследуемых молекулах водородная связь может иметь аномально высокие значения. Среди аминокислот, содержащих сопряженные системы, энергетический выигрыш в водной среде могут иметь тирозин (Tyr), триптофан (Trp) и заряженная форма гистидина (His).

Был произведен квантово-химический расчет модельных систем. В табл. 4 приведены величины изменения внутренней энергии в процессах комплексообразования между органическими молекулами в водной среде.

Следует отметить, что энергетический выигрыш наблюдается только при взаимодействии органических анионов с нейтральными молекулами. Особо следует отметить образование прочных водородных связей в ароматических и сопряженных системах. Катионные формы молекул хотя и образуют прочные водородные связи, однако энергетических выигрышей не наблюдается, так как исходное состояние при их взаимодействии с водой велико по энергии. В системах, содержащих только нейтральные молекулы, энергетический выигрыш незначительный, либо отсутствует вовсе. Все эти факты позволяют говорить о комплиментарности при взаимодействии органических молекул с белком. Только определенные сочетания активных групп органической молекулы при их взаимодействии с активными группами аминокислотных остатков способны обеспечить комплексообразование. Только некоторые группы, входящие в состав молекул действующего вещества, способны повышать энергию процесса комплексообразования, т.е. увеличивать константу прочности.

Таблица 4. *Энергетические эффекты замещения в водной среде*

Система	ΔEt, кДж/моль	Система	ΔEt, кДж/моль
$HCOOH+HCOO^-$	−31,19	Фенол + $HCOO^-$	−48,72
$CH_3COOH+CH_3COO^-$	−34,88	Фенол + CH_3COO^-	−47,83
$CH_3COOH+CH_3COOH$	34,87	Фенол + Фуран	12,61
$C_2H_5OH+CH_3COOH$	3,21	Фенол + $C_2H_5NH_3^+$	33,03
$C_2H_5OH+CH_3COO^-$	−0,20	Пиррол + CH_3COO^-	−37,76
$CH_3OCH_3+CH_3COOH$	−0,82	$C_6H_5COOH + CH_3COO^-$	−40,11
$C_2H_5NH_2+CH_3COO^-$	28,01	Фуран + $HCOOH$	19,05
$C_2H_5NH_2+CH_3COOH$	13,92	Пиррол + $HCOO^-$	−37,12
Пиридин+CH_3COOH	−8,32	Пиррол + Фуран	8,52
Анилин+CH_3COO^-	−31,24	Фуран + $C_2H_5NH_3^+$	22,31
Анилин+CH_3COOH	15,82	Индол + CH_3COO^-	−53,45

Вторым эффективным способом увеличения прочности комплекса является наращивание гидрофобных участков молекул лекарственных веществ в соответствии с гидрофобными участками молекул белка.

Эти примеры показывают, что энергетические эффекты процесса образования комплекса в корне изменяются при учете того, что взаимодействие происходит в водной среде.

Этот факт позволяет более рационально подходить к проектированию лекарственных веществ, в значительной мере сокращая затраты времени и средств для предсказания активности. Вычисляя энергии гидрофобного взаимодействия и рассчитывая энергетические эффекты замещения молекул воды с образованием сильных водородных связей, мы способны рассчитать максимально возможный аффинитет данного лекарственного вещества к идеально подходящему белку, что в свою очередь позволяет определить максимально возможную константу прочности комплекса лекарственного вещества с белком. Величина максимального аффинитета ЛВ к белковому субстрату служит количественной характеристикой, связанной с его фармакологической активностью, она позволяет оценить необходимые количества веществ, чтобы наблюдать фармакологический эффект, а также токсические дозы.

Например, произведем оценку максимально возможного аффинитета для молекулы фуросемида, рисунок.

Рисунок. *Молекула фуросемида*

В этой молекуле имеется несколько групп, способных образовать сильные водородные связи с белковыми мишенями: сульфаниламидная, карбоксильная и аминогруппа. Однако, необходимо учесть, что аминогруппа образует внутримолекулярную водородную связь и, вероятно, не может участвовать в образовании комплекса.

Из двух оставшихся групп – сульфаниламидной и карбоксильной, только вторая способна дать энергетический выигрыш и увеличить прочность комплекса на 35 кДж/моль. Сульфаниламидная группа при замещении молекулы воды на белке не увеличивает прочность комплекса. Гидрофобный эффект способен повысить прочность комплекса еще примерно на 22 кДж/моль. Это позволяет оценить прочность комплекса фуросемида с идеально подходящим белком, она составляет –57 кДж/моль. Это есть величина максимально возможного аффинитета.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Немухин А.В., Григоренко Б.Л., Грановский А.А. Молекулярное моделирование с программой PS GSMESS: от двухатомных молекул до ферментов // Вестник Московского университета. – 2004. – № 2. – С. 75–102.
2. Финкельштейн А.В. Физика белка. – М.: Книжный Дом Университет, 2002. – 376 с.
3. Каплан И.Г. Введение в теорию межмолекулярных взаимодействий. – М.: Наука, 1986. – 256 с.
4. Шульц Г., Ширмер Р. Принципы структурной организации белков. – М.: Мир, 1982. – 354 с.

УДК 665.61.033.28